


<https://doi.org/10.15517/rev.biol.trop.v71i1.53380>

## Variabilidad genética del pez *Lutjanus guttatus* (Perciformes: Lutjanidae) mediante el uso de microsatélites en Costa Rica

Alejandra Murillo-Rios<sup>1</sup>;  <https://orcid.org/0000-0002-6793-8218>

Silvia Ramirez-Flores<sup>1</sup>;  <https://orcid.org/0000-0002-4809-8022>

Juan Esteban Barquero-Chanto<sup>1</sup>;  <https://orcid.org/0000-0002-9289-2442>

Nelson Peña-Navarro<sup>1\*</sup>;  <https://orcid.org/0000-0002-8916-812X>

Ricardo Pérez-Enríquez<sup>2</sup>;  <https://orcid.org/0000-0001-7770-9155>

1. Universidad Técnica Nacional, Puntarenas, Costa Rica; [amurillorio@utn.ac.cr](mailto:amurillorio@utn.ac.cr); [sramirezf@utn.ac.cr](mailto:sramirezf@utn.ac.cr); [jebarquero@utn.ac.cr](mailto:jebarquero@utn.ac.cr); [npena@utn.ac.cr](mailto:npena@utn.ac.cr) (\*Correspondencia)
2. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C., La Paz, Baja California Sur, México; [rperez@cibnor.mx](mailto:rperez@cibnor.mx)

Recibido 04-I-2023. Corregido 27-IV-2023. Aceptado 20-VII-2023.

### ABSTRACT

#### Genetic variability of the fish *Lutjanus guttatus* (Perciformes: Lutjanidae) using microsatellites in Costa Rica

**Introduction:** The spotted snapper is a high-consumption and commercially important marine fish in Costa Rica, subjected to heavy fishing pressures, which can affect genetic diversity and generate problems due to inbreeding depression.

**Objective:** To evaluate the genetic status of the population of *Lutjanus guttatus* using microsatellites.

**Methods:** Samples were collected between 2018 and 2019, and 44 individuals from each of the localities of the Gulf of Nicoya and the Gulf of Dulce were studied. DNA extraction and amplification of ten loci with microsatellites using PCR were performed, followed by genotyping, analysis of genetic diversity, and population structure.

**Results:** Diversity parameters indicate a high polymorphism associated with a high number of alleles obtained per locus, but with low levels of observed heterozygosity compared to expected ( $H_o = 0.774$  and  $0.800$ , and  $H_e = 0.948$  and  $0.954$  for the Gulf of Nicoya and Gulf of Dulce, respectively). There is not enough evidence to say that the two populations are distinct ( $F_{ST} = 0.00264$ ,  $P > 0.05$ ). Deviation from Hardy-Weinberg equilibrium was recorded, indicating possible mixing of organisms of different origin from the wild environment.

**Conclusions:** *L. guttatus* presents high levels of genetic diversity, without evidence of differentiation in genetic subpopulations. For fisheries management purposes, they would be considered a single panmictic population. The possible mixing with wild individuals suggests the presence of organisms derived from a restocking or commercial cultivation program carried out in the region. The use of genetic markers is recommended to maintain monitoring, follow up on restocking programs and evaluate their effect.

**Key words:** rose spotted snapper; heterozygosity; inbreeding; genetic diversity.

### RESUMEN

**Introducción:** El pargo mancha es un pez marino de alto consumo e interés comercial en Costa Rica que está sometido a una fuerte presión pesquera, la cual puede afectar la diversidad genética y generar problemas por depresión endogámica.



**Objetivo:** Evaluar el estado genético de la población de *Lutjanus guttatus* mediante el uso de microsatélites.

**Métodos:** Se recolectaron muestras entre el 2018 y 2019 y se estudiaron 44 individuos de cada una de las localidades del Golfo de Nicoya y Golfo Dulce. Se realizó la extracción de ADN y la amplificación de diez loci con microsatélites mediante PCR, para la determinación del genotipo, análisis de diversidad genética y estructura poblacional.

**Resultados:** Los parámetros de diversidad indican un elevado polimorfismo asociado con un alto número de alelos obtenidos por locus, pero con bajos niveles de heterocigosidad observada en comparación con la esperada ( $H_o = 0.774$  y  $0.800$  y  $H_e = 0.948$  y  $0.954$  para Golfo de Nicoya y Golfo Dulce, respectivamente). No hay evidencia suficiente para decir que las dos poblaciones son distintas ( $F_{ST} = 0.00264$ ,  $P > 0.05$ ). La desviación del Equilibrio de Hardy-Weinberg indica la posible mezcla de organismos de origen distinto a los del medio silvestre.

**Conclusiones:** *L. guttatus* tiene niveles altos de diversidad genética, no hay evidencia de diferenciación en subpoblaciones genéticas, lo que en manejo pesquero se considera una sola población panmictica. La posible mezcla de individuos de origen distinto al silvestre sugiere la presencia de organismos de un programa de repoblación o de cultivos comerciales en la región. El uso de marcadores genéticos se recomienda para el monitoreo, además, en programas de repoblación y evaluar su efecto.

**Palabras clave:** pargo mancha rosado; heterocigosidad; endogamia; diversidad genética.

## INTRODUCCIÓN

El pargo mancha (*Lutjanus guttatus*) es una especie de alta importancia comercial en pesquerías y cultivos acuícolas en Costa Rica, que se ha visto sometida a una fuerte presión pesquera (Soto-Rojas et al., 2018). Es un pez marino demersal que se distribuye desde el Golfo de California en México hasta Ecuador (Fischer et al., 1995). Esta especie se reproduce durante todo el año en dos picos que difieren según los sitios de muestreo (Arellano-Martínez et al., 2001; Rojas, 1996; Soto-Rojas et al., 2009) y posee desoves por periodos con desarrollo ovárico asincrónico (Pérez-Enríquez et al., 2020). En el país existe una empresa que lo cultiva de forma comercial (Peña-Navarro et al., 2019) y se han dado liberaciones programadas de alevines en programas de repoblamiento (Chacón-Guzmán et al., 2019).

Los estudios de *L. guttatus* en Costa Rica se han enfocado en el análisis de parámetros poblacionales (Soto-Rojas et al., 2018), hábitos alimenticios (Rojas et al., 2004; Soto-Rojas et al., 2018), hábitos reproductivos (Rojas, 1996; Soto-Rojas et al., 2009), crecimiento (Soto-Rojas et al., 2009) y fecundidad (Rojas, 1996). En el ámbito genético de las poblaciones, no existen reportes de muestras obtenidas en Costa Rica; sin embargo, un análisis basado en ADN

mitocondrial indica homogeneidad genética entre las localidades de El Salvador y Panamá (Hernández-Álvarez et al., 2020).

La estructura genética y los niveles de variabilidad de las poblaciones de peces es un indicador del estado poblacional y pueden ser tomadas como referencia para programas de conservación (Muñoz et al., 2019). Dentro de los factores que pueden afectar los niveles de variabilidad genética de las poblaciones se encuentran las características del ambiente en el que viven, eventos históricos que ocurren en el sitio (Palma et al., 2007), sobrepesca, introducción de especies exóticas, deterioro del hábitat y fragmentación de los ecosistemas (Mancera et al., 2013). Los marcadores moleculares son herramientas de suma importancia para el estudio de poblaciones salvajes que se pueden utilizar para conocer las estructuras genéticas y establecer medidas de manejo, programas de restauración e identificación de stocks como posible fuente de reproductores para el desarrollo de tecnologías acuícolas (Povh et al., 2008).

Los microsatélites son marcadores moleculares que se caracterizan por ser secuencias de regiones de ADN que presentan repeticiones en tándem de bases nitrogenadas que pueden tener distinto tamaño. Se identifican mediante técnicas de amplificación de reacción de polimerasa

en cadena (PCR) con M13 y distintos fluoróforos para sitios específicos seleccionados con cebadores diseñados para estas regiones (Schuelke, 2000). Estos han dado resultados adecuados para el estudio poblacional tanto en el medio silvestre como en cultivo de especies como camarón blanco (Pérez-Enríquez & Max-Aguilar, 2016) y en peces de la familia Lutjanidae, tales como *Lutjanus peru* (Molina-Quirón, 2022; Reguera-Rouzaud et al., 2021), *Lutjanus synagris* (Landínez et al., 2009), *Lutjanus argentiventris* (Reguera-Rouzaud et al., 2021) y *Lutjanus guttatus* (Pérez-Enríquez et al., 2020), pues presenta valores representativos según los objetivos de los estudios.

Debido a la poca información de la estructura genética del pargo mancha (*L. guttatus*) en Costa Rica, se pretende evaluar la estructura genética poblacional de dos poblaciones en el pacífico costarricense en el Golfo de Nicoya y el Golfo Dulce.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Para este estudio, las muestras del pargo mancha (*L. guttatus*) se tomaron en el Golfo de Nicoya (9°44'21.3" N & 84°48'55" W) en septiembre de 2018 y marzo de 2019 y en el Golfo Dulce (8°28'32.2" N & 83°12'29.4" W) en agosto de 2019 (Tabla 1), las cuales se encuentran en la costa del Pacífico de Costa Rica separadas por aproximadamente 225 km. Se utilizaron 44 muestras de los peces

capturados de cada una de las localidades, se obtuvo la longitud total y se estimó la edad de cada grupo por fecha de muestreo mediante la ecuación descrita por Soto-Rojas et al., (2018). Asimismo, se tomó una sección de la aleta caudal de aproximadamente 2 cm<sup>2</sup> que se preservó con etanol al 80 % en tubos de microcentrifugación de 1.5 ml. Estas muestras se encuentran custodiadas por el Laboratorio de Patología Acuícola (LAPA) de la Universidad Técnica Nacional, Sede Pacífico. Para la extracción del ADN, se utilizó un kit comercial (Qiagen, DNeasy Blood and Tissue Kit) y se procedió a seguir la metodología propuesta por el fabricante. Se realizó la cuantificación del ADN y la medición de la pureza por fotometría mediante un biofotómetro (Eppendorf, D30).

La preparación de las muestras para la amplificación de los microsatélites se llevó a cabo mediante PCR según Pérez-Enríquez et al., (2020). Brevemente, en un volumen final de reacción para el PCR de 11 µl, se colocaron 5.5 µl de máster mix TopTaq (Qiagen) y 0.5 µl del ADN de las muestras; adicionalmente se les agregó 0.1 µM de cebador forward (INVITROGEN, USA), 0.4 µM de cebador reverse (INVITROGEN, USA) y M13 con el fluoróforo (6-FAM, VIC, PET y NED) y el volumen faltante se completó con agua nanopura. Los cebadores empleados en este estudio fueron *Lgut15*, *Lgut18*, *Lgut19*, *Lgut21*, *Lgut26*, *Lgut34*, *Lgut37*, *Lgut38*, *Lgut43* y *Lgut44* siguiendo lo mencionado por Pérez-Enríquez

**Tabla 1 / Table 1**

Localidades de muestreo de *Lutjanus guttatus* en la costa del Pacífico de Costa Rica. / Sampling locations of *Lutjanus guttatus* in the Pacific coast of Costa Rica.

| Región          | Localidad                 | Fecha       | N* | Talla (cm) |
|-----------------|---------------------------|-------------|----|------------|
| Golfo de Nicoya | Playa San Lucas Tumbabote | 10-oct-2018 | 14 | 16.9 (1.9) |
|                 | Los Garrobos              | 08-mar-2019 | 11 | 24.8 (3.7) |
|                 | Gitana                    | 08-mar-2019 | 6  | 19.5 (2.3) |
|                 | Chiquita                  | 08-mar-2019 | 12 | 22.7 (3.2) |
|                 | Chincheta                 | 08-mar-2019 | 1  | 21.0 (nd)  |
| Golfo Dulce     | Los Chorros               | 21-ago-2019 | 4  | 19.6 (2.2) |
|                 | Manchadito                | 21-ago-2019 | 26 | 21.2 (2.7) |
|                 | Playa Esperanza           | 21-ago-2019 | 14 | 22.8 (3.3) |

\* N = Número de organismos muestreados por sitio. / \* N = Number of sampled organisms per site.



et al., (2020), con sus respectivas temperaturas de alineamiento.

La amplificación se llevó a cabo con el termociclador (Thermo Fisher Scientific, EN61326, USA) con las siguientes condiciones térmicas: 94 °C por 5 min; 15 ciclos de 94 °C por 30 s, temperatura de alineamiento por 30 s, 72 °C por 30 s; después 30 ciclos de 94 °C por 30 s, 53 °C por 30 s y 72 °C por 30 s; finalmente se mantuvo a 72 °C por 10 min para la extensión final.

Para comprobar los resultados de los protocolos de amplificación modificados, los productos de PCR obtenidos para cada muestra se agruparon en tres POOLPLEX y posteriormente se enviaron a genotipificar al Centro de Investigaciones en Biología Celular y Molecular (CIBCM) de la Universidad de Costa Rica (UCR), para lo cual se utilizó el equipo secuenciador ABI 3500 (Applied Biosystem) usando GeneScan™ 600 LIZ™ como estándar de tamaño (Paz-García et al., 2017). Los resultados se analizaron con el software GeneMarker V 3.0.1 (SoftGenetics) con el objetivo de identificar los alelos para cada locus y se agruparon por localidad.

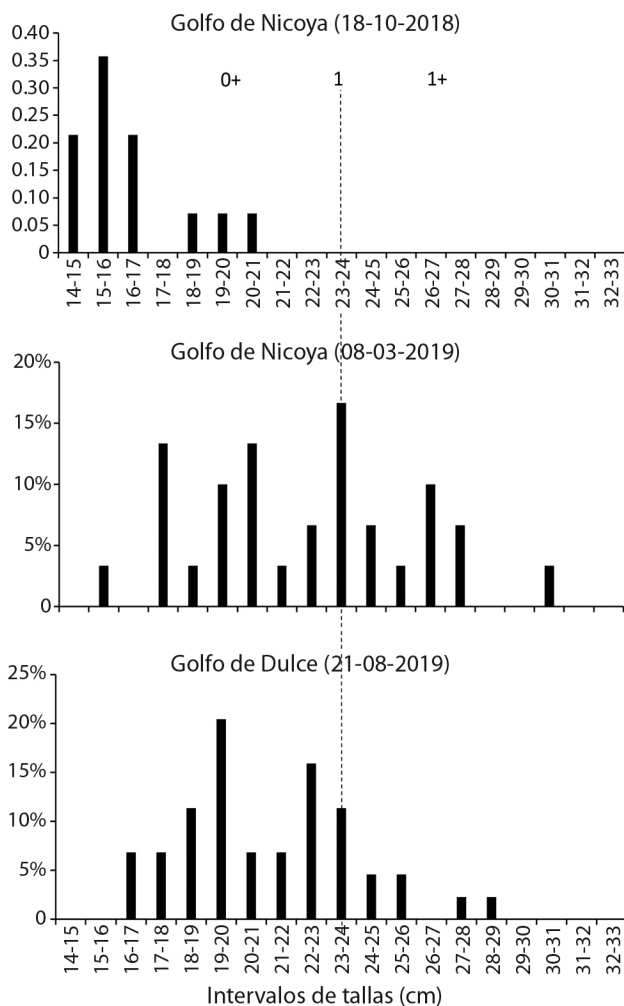
Se realizó una selección de datos y se eliminaron muestras que presentaban datos perdidos en tres o más loci, y se eliminaron los loci que presentaban más del 10 % de datos perdidos con el análisis del programa Arlequin (Excoffier et al., 2005). Se estimaron las frecuencias alélicas y los parámetros de diversidad (número de alelos, número efectivo de alelos y heterocigosidad observada y esperada). Se estimó la conformación al Equilibrio de Hardy-Weinberg por locus y localidad mediante el programa GenAlEx (Peakall & Smouse 2012); la significancia de los valores de  $\chi^2$  dentro de cada localidad (total y grupos por fecha de muestreo en el Golfo de Nicoya; total y grupos por cohorte en Golfo Dulce), se ajustaron de acuerdo con el método secuencial de Bonferroni (Rice, 1989). Se establecieron las diferencias entre localidades para las especies muestreadas mediante análisis molecular de varianza (AMOVA) con un 95 % de confianza, basado en el índice de fijación  $F_{ST}$  con

el programa Arlequin (Excoffier et al., 2005). Se implementó un análisis de componentes principales (PCoA) para visualizar la estructura poblacional utilizando el programa Adegenet 2.1.5 (Jombart & Ahmed, 2011). También, se infirió la estructura genética mediante el método bayesiano de agrupamiento instrumentado en el programa Structure 2.3.4 (Pritchard et al., 2000). Las condiciones de las corridas del método Monte Carlo de la Cadena de Markov fueron 20 000 pasos de precalentamiento y 50 000 simulaciones para cada número posible de grupos (K= 1 hasta 8). El valor de K más probable se determinó mediante el método de Evanno (Evanno et al., 2005) implementado en el programa STRUCTURE HARVESTER (Earl & von Holdt, 2012). Finalmente, se realizó un análisis de distancias genéticas mediante remuestreo utilizando el programa Phylip 3.698 (Felsenstein, 1998). Las condiciones de corrida fueron 10 000 simulaciones de las frecuencias alélicas en el programa Seqboot, las matrices de distancias genéticas de Nei y Cavalli-Sforza se obtuvieron con la subrutina Gendist, se generaron dendrogramas con el programa Neighbor utilizando las configuraciones Neighbor Joining y UPGMA y finalmente se obtuvo el dendrograma consenso con el programa CONSENSE. Los resultados se visualizaron en el programa Treeview 1.6.5 (Roderic, 1996)

## RESULTADOS

Se recolectaron 44 individuos por sitio de muestreo, que presentaron una distribución de longitudes de  $20 \pm 4$  cm y  $21 \pm 3$  cm, para el Golfo de Nicoya y el Golfo Dulce, respectivamente. Se observó que las muestras representaron las cohortes de edad 0 +, 1 y 1 + (Fig. 1).

De la extracción de ADN, se obtuvo una concentración promedio de  $254 \pm 107$  ng/ $\mu$ l para las muestras del Golfo de Nicoya y  $114 \pm 105$  ng/ $\mu$ l, y para las del Golfo Dulce. Del análisis de datos perdidos, se eliminaron en total 4 muestras para la población del Golfo de Nicoya y dos muestras para la población del Golfo Dulce, para un total de 40 y 42 muestras



**Fig. 1.** Estructura de tallas de los muestreos de *Lutjanus guttatus* en las localidades de Golfo de Nicoya y Golfo Dulce. La línea punteada indica la talla esperada para la edad de 1 año de acuerdo con Soto-Rojas et al., (2018); las tallas menores y mayores a ésta, corresponden a las edades 0+ y 1+, respectivamente. / **Fig. 1.** Size structure of *Lutjanus guttatus* samples in the Golfo de Nicoya and Golfo Dulce localities. The dashed line indicates the expected size for 1-year-old individuals according to Soto-Rojas et al., (2018); sizes smaller and larger than this corresponds to ages 0+ and 1+, respectively.

analizadas, respectivamente. Por otro lado, del análisis de datos perdidos por loci se encontró que los loci *Lgut19* y *Lgut36* presentaban más del 10 %, por lo que se procedieron a eliminar para los análisis posteriores.

Cuando se evaluó el equilibrio Hardy-Weinberg para el conjunto de muestras por localidad, ver columnas “total” en tabla 2 (Tabla 2) se observó desviación significativa del equilibrio ( $P < 0.0063$ ) en ambas

localidades, con la única excepción del locus *Lgut18*. Sin embargo, cuando los datos se manejaron por sitio de muestreo o cohorte, se observa que únicamente grupo B-D del Golfo de Nicoya y la cohorte 0 + de Golfo Dulce se desviaron del equilibrio, indicando un posible efecto Wahlund en éstas.

La diversidad genética se analizó simplificando a las dos localidades, es decir, Golfo de Nicoya vs Golfo Dulce. Se observó una alta

**Tabla 2 / Table 2**

Valores de probabilidad para los valores de  $\chi^2$  obtenidos en las pruebas de Equilibrio de Hardy-Weinberg por localidad (total) y por grupos dentro de localidades (ver Fig. 1). / Probability values for the  $\chi^2$  values obtained in the Hardy-Weinberg Equilibrium tests by locality (total) and by groups within localities (see Fig. 1).

| Locus         | Golfo de Nicoya <sup>1</sup> |         |            |                     | Golfo Dulce |             |                     |             |
|---------------|------------------------------|---------|------------|---------------------|-------------|-------------|---------------------|-------------|
|               | Total                        | Sitio A | Sitios B-D | Sitios C-E          | Total       | Cohorte 0 + | Cohorte 1           | Cohorte 1 + |
| <i>Lgut18</i> | 0.198                        | 0.778   | 0.239      | 0.412               | 0.125       | 0.527       | 0.279               | 0.261       |
| <i>Lgut37</i> | 0.000*                       | 0.534   | 0.001*     | 0.050 <sup>ns</sup> | 0.000*      | 0.000*      | 0.039 <sup>ns</sup> | 0.423       |
| <i>Lgut15</i> | 0.000*                       | 0.251   | 0.000*     | 0.820               | 0.000*      | 0.001*      | 0.026 <sup>ns</sup> | 0.261       |
| <i>Lgut43</i> | 0.000*                       | 0.214   | 0.001*     | 0.680               | 0.221       | 0.532       | 0.316               | 0.423       |
| <i>Lgut21</i> | 0.003*                       | 0.159   | 0.185*     | 0.491               | 0.000*      | 0.009*      | 0.142               | 0.317       |
| <i>Lgut26</i> | 0.003*                       | 0.348   | 0.125      | 0.516               | 0.000*      | 0.010*      | 0.179               | 0.423       |
| <i>Lgut44</i> | 0.000*                       | 0.171   | 0.000*     | 0.092               | 0.000*      | 0.004*      | 0.000*              | 0.157       |
| <i>Lgut34</i> | 0.026 <sup>ns</sup>          | 0.129   | 0.199      | 0.472               | 0.002*      | 0.015*      | 0.267               | 0.317       |
| Fis           | 0.184                        | 0.112   | 0.201      | 0.074               | 0.160       | 0.165       | 0.121               | -0.200      |

1 Sitio A: Playa San Lucas Tumbabote; Sitios B-D: Los Garrobos-Chiquita; Sitios C-E: Gitana-Chincheta. El valor crítico del ajuste secuencial de Bonferroni es  $P = 0.0063$ . Fis: Coeficiente de endogamia para cada grupo. \* Valor estadísticamente significativo; ns: menor a 0.05 pero no significativo. / 1 Site A: Playa San Lucas Tumbabote; Site B-D: Los Garrobos-Chiquita; Site C-E: Gitana-Chincheta. \* Statistically significant value; ns: under 0.05 but not significant. The critical value for the sequential Bonferroni adjustment is  $P = 0.0063$ . Fis: Inbreeding coefficient for each group.

diversidad genética en ambas localidades con un número de alelos por locus de 34.12 y 35.75 ( $N_a$ ) (Fig. 2A), un número efectivo de alelos por locus de 23.92 y 23.25 ( $N_e$ ) (Fig. 2A), una heterocigosidad observada de 0.774 y 0.800 ( $H_o$ ) (Fig. 2B) y una heterocigosidad esperada de 0.948 and 0.954 ( $H_e$ ) (Fig. 2B), en promedio para el Golfo de Nicoya y el Golfo Dulce respectivamente. En ningún caso hubo diferencias significativas entre localidades. Sin embargo, la heterocigosidad promedio observada para los diferentes loci fue menor a la heterocigosidad esperada en ambas localidades (Fig. 2C, Fig. 2D). El déficit de heterocigotos fue más evidente en los loci *Lgut37*, *Lgut15* y *Lgut44* en las dos localidades.

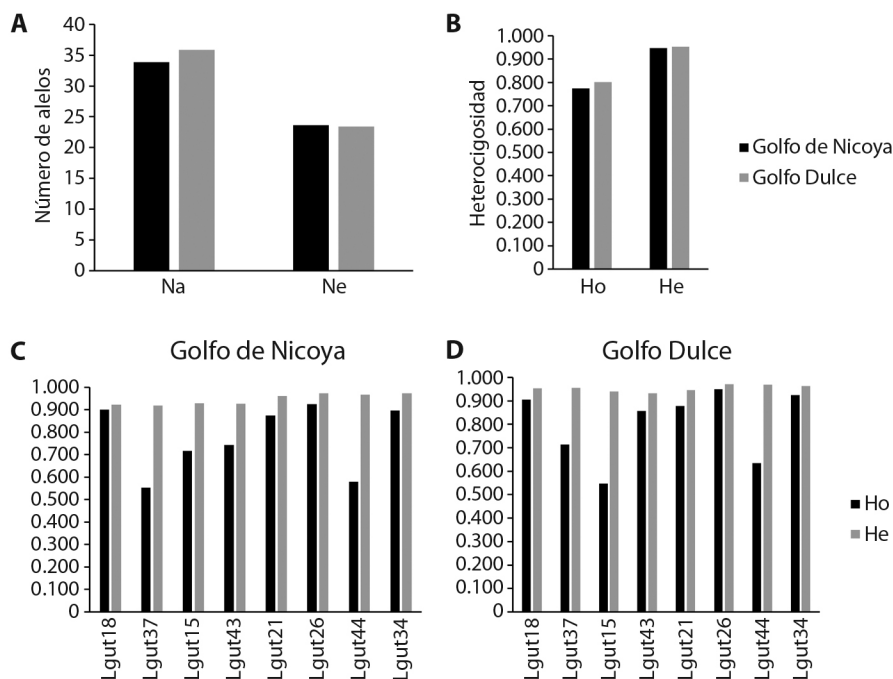
El índice de endogamia (Fis) total fue mayor al 16 % en ambas localidades (Tabla 2). El análisis a nivel de grupos del Golfo de Nicoya los valores indican una reducción a menos de 11.5 % en los sitios A y C-E; los valores de *Fis* entre cohortes muestran que en la 0 + el nivel se mantiene en el 16.5 %, una reducción al 12 % en la cohorte 1 y un exceso de heterocigotos en la 1 + (Tabla 2).

Al realizar la comparación de las distancias genéticas evaluadas entre las localidades

del Golfo de Nicoya y el Golfo Dulce mediante el AMOVA, se obtuvo que la distancia genética ( $F_{ST}$ ) es de 0.00264, la cual no fue significativamente diferente de cero ( $P > 0.05$ ), por lo que no hay evidencias para considerar que se trata de poblaciones distintas. El resultado del análisis de componentes principales (PCA) (Fig. 3A) y el método de grupos (Fig. 3B) muestran la misma situación, es decir que no hay evidencias de que Golfo de Nicoya y Golfo Dulce sean poblaciones genéticamente distintas; sin embargo, en el PCA se aprecian ejemplares con valores relativamente extremos (fuera de las elipses), que pudieran deberse a dos factores: individuos con dos o más loci homocigotos o de origen distinto. De acuerdo con los dendrogramas de distancia genética, el punto de muestreo A (Golfo de Nicoya), que contiene a los ejemplares colectados en octubre de 2018, se agrupa como ligeramente distinto al resto (Fig. 3C, Fig. 3D).

## DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio demostraron un elevado grado de polimorfismo asociado a la cantidad de alelos que se encontraron en



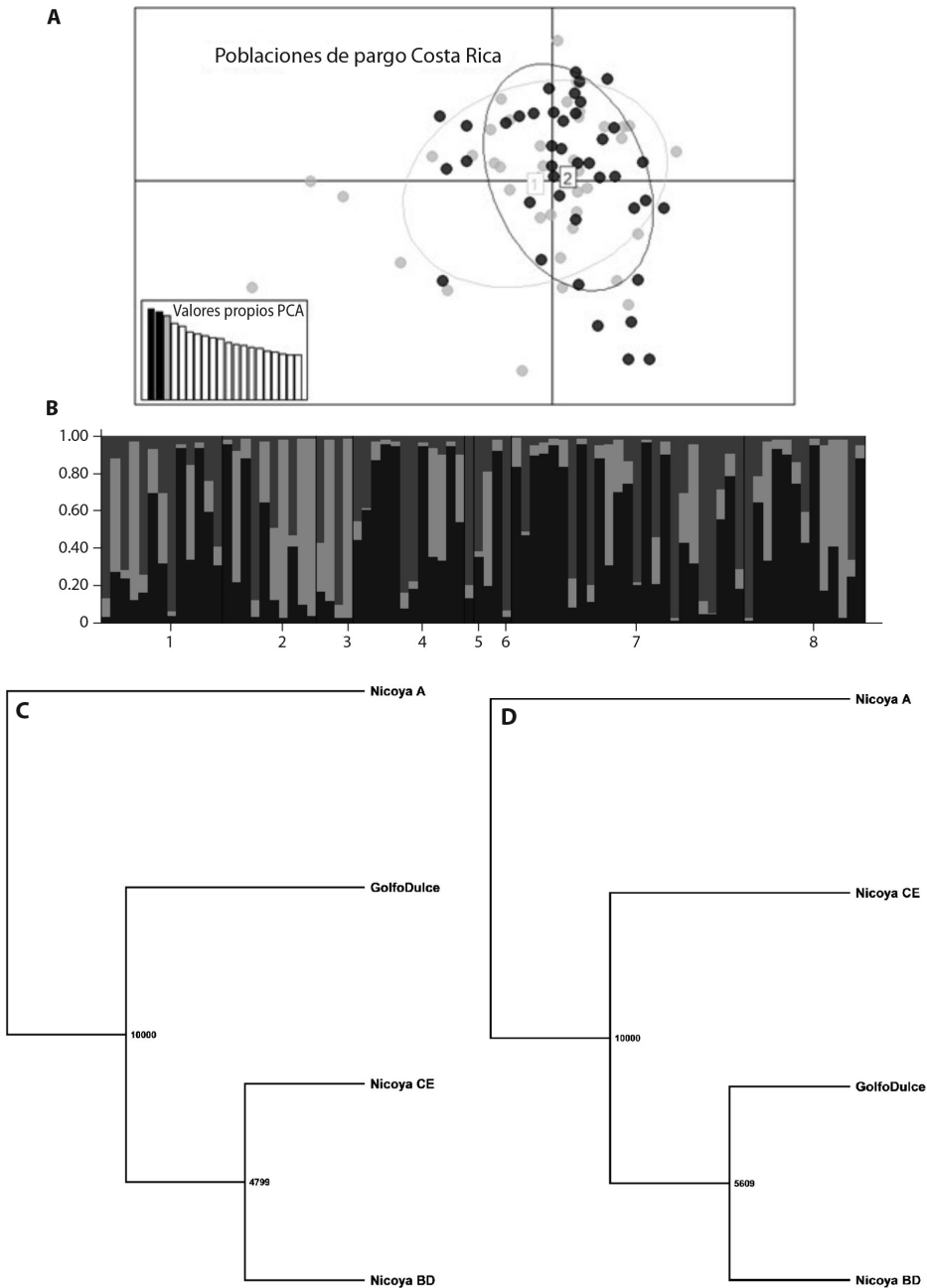
**Fig. 2.** Diversidad genética de *Lutjanus guttatus* en las localidades de Golfo de Nicoya y Golfo Dulce. **A.** Número promedio de alelos por locus (Na) y número efectivo de alelos por locus (Ne); **B.** Heterocigosidad observada (Ho) y esperada (He); **C., D.** Heterocigosidad por locus en Golfo de Nicoya y Golfo Dulce, respectivamente. / **Fig. 2.** Genetic diversity of *Lutjanus guttatus* in the Golfo de Nicoya and Golfo Dulce localities. **A.** Average number of alleles per locus (Na) and effective number of alleles per locus (Ne); **B.** Observed (Ho) and expected (He) heterozygosity; **C., D.** Heterozygosity per locus in Golfo de Nicoya and Golfo Dulce, respectively.

cada localidad para cada locus analizado, esto indica que estos loci son informativos para la especie *L. guttatus* (Pérez-Enríquez et al., 2020). Además, es probable que el potencial de viabilidad de las poblaciones a largo plazo se pueda conservar a pesar de factores ambientales o humanos como la pesca (Pérez-Enríquez et al., 2018).

El análisis de diferenciación genética entre las dos poblaciones estudiadas indica que pertenecen a una sola población panmíctica con flujo genético entre ellas. Pese a que ambos sitios presentan topografías y composiciones planctónicas distintas según la estación (seca o lluviosa), en donde el Golfo de Nicoya es un estuario tectónico de 1 543 km<sup>2</sup> con alta influencia estacional, mientras que el Golfo Dulce es un estuario tectónico de 750 km<sup>2</sup> con menos influencia por la parte estacional (Wangelin & Wolff, 1996), no parecen existir

barreras a la conectividad genética entre dichos sitios, de manera que, para efectos de manejo se podrían considerar como una sola población (Gomes et al., 2012). El fenómeno de panmixia también se observó en *L. guttatus* entre localidades aún más distantes (El Salvador y Panamá), pero utilizando un marcador genético menos variable como el ADN mitocondrial (Hernández-Álvarez et al., 2020). La falta de diferenciación en la región del Pacífico del sur de México, Centroamérica y Colombia se ha reportado también para el *Lutjanus peru* (Molina-Quirós, 2022; Reguera-Rouzaud et al., 2021), así como en otras especies de pargo en distintos sitios del Atlántico como *L. campechanus* (Garber et al., 2004), y *L. purpureus* (Gomes et al., 2012).

Por otro lado, en este estudio, se encontró que los menores niveles de heterocigosidad observada respecto de la esperada en la



**Fig. 3. A.** Análisis de componentes principales de las poblaciones de *L. guttatus* del Golfo de Nicoya (1, color gris) y del Golfo Dulce (2, color negro). **B.** Análisis de agrupación genética de localidades con agrupamiento a posteriori con  $K = 3$ , donde las poblaciones del uno al cinco pertenecen al Golfo de Nicoya, y del seis al ocho al Golfo Dulce. **C., D.** Árboles con configuración UPGMA de distancias genéticas del remuestreo con 10 000 simulaciones. **C.** Distancia de Cavalli-Sforza y **D.** Distancia de Nei. / **Fig. 3. A.** Principal Component Analysis of *L. guttatus* populations from Golfo de Nicoya (1, gray color) and Golfo Dulce (2, black color). **B.** Genetic clustering analysis of localities with posterior assignment using  $K = 3$ , where populations one to five belong to Golfo de Nicoya and populations six to eight belong to Golfo Dulce. **C., D.** UPGMA trees of genetic distance based on resampling with 10 000 simulations. **C.** Cavalli-Sforza distance and **D.** Nei distance.



mayoría de loci, es consecuente con la desviación del EHW.

La desviación en el equilibrio de Hardy-Weinberg, aun cuando exista el supuesto de panmixia, se puede deber a muchos factores, como errores en la genotipificación por la presencia de picos fantasmas, dominancia de alelos pequeños o la presencia de alelos nulos (Ellegren, 2000); otra posible explicación es el efecto Wahlund, que señala que la mezcla de poblaciones con frecuencias alélicas distintas puede ocasionar un déficit de heterocigotos (Pérez-Enríquez et al., 2018).

En referencia a los errores de genotipificación, esto se ha observado en distintos organismos marinos tanto vertebrados como invertebrados (Landínez et al., 2009). De hecho, dentro de los microsatélites empleados para este estudio, el *Lgut18*, *Lgut 21* y *Lgut 34* se ha sugerido que presentan una alta tasa de mutación y la presencia de alelos nulos (Pérez-Enríquez et al., 2020).

En cuanto al efecto Wahlund, este tipo de mezcla pudo haber ocurrido debido al programa de repoblación del pargo mancha (*L. guttatus*) que maneja un centro de reproducción en Costa Rica, quienes durante el 2017 y 2018, realizaron ocho liberaciones de 31 000 individuos de entre 2-10 g en el Golfo de Nicoya (Chacón-Guzmán et al., 2019). Esta posible mezcla es más evidente en las muestras obtenidas en marzo de 2019, las cuales contienen ejemplares de las cohortes 0 +, 1 y 1 + (Fig. 2). En el caso de Golfo Dulce, también se tiene una aparente mezcla de individuos de las cohortes 0 + y 1 que resultó en desviación del EHW, sin embargo, no hay evidencias de ejemplares liberados por el programa de repoblación arriba mencionado o por una granja de cultivo comercial en jaulas marinas que tiene lugar aproximadamente 150 km al noroeste (HFM, 2022). La desviación del EHW fue también utilizado como criterio para determinar la presencia de camarón de cultivo en poblaciones silvestres del noroeste de México (Pérez-Enríquez et al., 2018). Sin embargo, no se puede descartar la posibilidad de que la propia mezcla de cohortes en parte explique la desviación al EHW;

en el pez *Plectropomus leopardus*, una especie asociada a arrecifes de coral, Taboun et al., (2021) detectaron diferencias genéticas significativas entre cohortes, poniendo en relevancia la importancia del seguimiento temporal de la estructura genética.

Estos resultados indicarían, por una parte, que los marcadores genéticos utilizados pueden ser una herramienta adecuada para la detección de organismos provenientes de programas de repoblación o de cultivo comercial en el medio silvestre y, por el otro, que hubo un potencial éxito del programa de repoblación, al menos para la región del Golfo de Nicoya, sitio en el cual se documentó la liberación de juveniles de *L. guttatus* (Chacón-Guzmán et al., 2019). Un análisis más preciso de esta situación requeriría de la caracterización genética de los lotes de reproductores e incluso un diseño de los programas de repoblación que tomen en cuenta sus posibles efectos negativos en términos de los cambios que pueden ocurrir en las poblaciones silvestres debido a la pérdida de diversidad genética, endogamia, o capacidad adaptativa, entre otros (Pérez-Enríquez et al., 2013).

**Declaración de ética:** los autores declaran que todos están de acuerdo con esta publicación y que han hecho aportes que justifican su autoría; que no hay conflicto de interés de ningún tipo; y que han cumplido con todos los requisitos y procedimientos éticos y legales pertinentes. Todas las fuentes de financiamiento se detallan plena y claramente en la sección de agradecimientos. El respectivo documento legal firmado se encuentra en los archivos de la revista.

## AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. (CIBNOR) por su colaboración para la elaboración de la investigación, y en particular a S. Avila y A. Max-Aguilar por el soporte técnico. También agradecemos a la Universidad Técnica Nacional (UTN) de Costa Rica, por el apoyo financiero mediante el proyecto código 013205,



también al Laboratorio de Patología Acuicola (LAPA) de la UTN por facilitarnos sus instalaciones y en particular a B. Chacón-Pérez por el soporte técnico.

## REFERENCIAS

- Arellano-Martínez, M., Rojas-Herrera, A., García-Domínguez, F., Ceballos-Vázquez, B., & Villalejo-Fuerte, M. (2001). Reproductive cycle of the spotted rose snapper *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869) in the Guerrero coast, Mexico. *Revista de biología marina y oceanografía*, 36, 1–8. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-19572001000100001>
- Chacón-Guzmán, J., Carvajal-Oses, M., Herrera-Ulloa, A., Corrales-Gómez, N., Granados-Cerdas, R., Otárola-Fallas, A., Marín-Alpizar, B., & Fajardo-Espinoza, O. (2019). Liberación de juveniles de pargo manchado *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869), como estrategia para la conservación de la especie y educación ambiental marino costera. *Gestión y Ambiente*, 22(1), 55–65. <https://doi.org/10.15446/ga.v22n1.76516>
- Earl, D. A., & von Holdt, B. M. (2012). Structure Harvester: un sitio web y un programa para visualizar la salida de Structure e implementar el método Evanno. *Recursos Genéticos de Conservación*, 4, 359–361. <https://doi.org/10.1007/s12686-011-9548-7>
- Ellegren, H. (2000). Microsatellite mutations in the germline: implications for evolutionary inference. *Trends in Genetics*, 16, 551–558. [https://doi.org/10.1016/S0168-9525\(00\)02139-9](https://doi.org/10.1016/S0168-9525(00)02139-9)
- Evanno, G., Regnaut, S., & Goudet, J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology*, 14, 2611–2620. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294x.2005.02553.x>
- Excoffier, L., Laval, G., & Schneider, S. (2005). Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*, 1, 47–50.
- Felsenstein, J. (1989). PHYLIP - Phylogeny Inference Package (Version 3.2). *Cladistics*, 5, 164–166.
- Fischer, W., Krupp, F., Schneider, W., Sommer, C., Carpenter, K., & Niem, V. (1995). *Guía FAO para la identificación de especies del Pacífico centro-oriental. Vertebrados*. FAO.
- Garber, A. F., Tringali, M. D., & Stuck, K. C. (2004). Population structure and variation in red snapper (*Lutjanus campechanus*) from the Gulf of Mexico and Atlantic coast of Florida as determined from mitochondrial DNA control region sequence. *Marine Biotechnology*, 6, 175–185. <https://doi.org/10.1007/s10126-003-0023-7>
- Gomes, G., Sampaio, I., & Schneider, H. (2012). Population structure of *Lutjanus purpureus* (Lutjanidae–Perciformes) on the Brazilian coast: further existence evidence of a single species of red snapper in the western Atlantic. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 84, 979–999. <https://doi.org/10.1590/S0001-37652012000400013>
- Hernández-Álvarez, C., Bayona-Vásquez, N., Domínguez-Domínguez, D., Uribe-Alcocer, M., & Díaz-Jaimés, P. (2020). Phylogeography of the Pacific Red Snapper (*Lutjanus peru*) and Spotted Rose Snapper (*Lutjanus guttatus*) in the inshore Tropical Eastern Pacific. *Copeia*, 108, 61–71. <https://doi.org/10.1643/CG-18-157>
- HFM. (2022). Interview with Tony Broadhurst. *Hatchery Feed & Management*, 10, 4–6 <https://www.hatcheryfm.com/hatcheryfeed-magazine/>
- Jombart, T., & Ahmed, I. (2011). Adegnet 1.3-1: nuevas herramientas para el análisis de datos SNP de todo el genoma. *Bioinformática*, 27, 3070–3071. <https://doi.org/10.1093/bioinformática/btr521>
- Landínez, R. M., Ospina, S. P., Rodríguez-Castro, D. J., Arango, R., & Márquez, E. (2009). Análisis genético de *Lutjanus synagris* en poblaciones del Caribe Colombiano. *Ciencias marinas*, 35, 321–331.
- Mancera, N., Marquez, E., & Hurtado, J. (2013). Uso de citogenética y técnicas moleculares en estudios de diversidad genética en peces colombianos. En J. Zamora, A. Ortega & C. Ortiz (Eds.), *Biología molecular aplicada a la producción animal y la conservación de especies silvestres* (pp. 237–312). Centro de publicaciones Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín.
- Molina-Quirós, J. L. (2022). *Diversidad y flujo génico del pargo seda (Lutjanus peru) en la costa pacífica de Costa Rica, Panamá y Colombia, mediante marcadores moleculares de microsatélite* (Tesis de maestría). Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California, México.
- Muñoz, L. E., Arredondo, J., & Carranza, J. (2019). Estructura genética poblacional del pez *Brycon henni* (Characiformes: Characidae) en la región andina de Colombia utilizando marcadores microsatélites. *Revista de Biología Tropical*, 67, 733–744. <http://dx.doi.org/10.15517/rbt.v67i4.32006>
- Palma, M., González, F., Romo, H., Ruiz, E., & Fuenzalba, C. (2007). Contamination effects on genetic diversity of *Mazzaella laminarioides* (Bory de Ferencq (Gigartinales, Rhodophyta) on bays. *Gayana Botánica*, 64(1), 4–32. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-66432007000100003>
- Paz-García, D., Munguía-Vega, A., Plomozo-Lugo, T., & Hudson, A. (2017). Characterization of 32 microsatellite loci for Pacific red snapper, *Lutjanus peru*, through next generation sequencing. *Molecular*

- Biology Repository*, 44(2), 251–256. <http://dx.doi.org/10.1007/s11033-017-4105-4>
- Pérez-Enríquez, R., & Max-Aguilar, A. (2016). Rastreabilidad del pedigrí en camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) mediante marcadores genéticos: Una comparación entre microsatélites y SNP. *Ciencias marinas*, 42, 227–235. <https://doi.org/10.7773/cm.v42i4.2662>
- Pérez-Enríquez, R., Millán-Márquez, A. M., Cruz-Hernández, P., & Saucedo-Barrón, C. J. (2018). Genética poblacional de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* en Sinaloa, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 89(1), 290–297. <https://doi.org/10.22201/ib.20078706e.2018.1.2070>
- Pérez-Enríquez, R., Ramos-Paredes, J., & Varela-Romero, A. (2013). Diversidad genética del ADN mitocondrial en reproductores de *Litopenaeus vannamei* utilizados en el noroeste de México. *Ciencias marinas*, 39, 401–412. <https://doi.org/10.2298/TSCI16S3711L>
- Pérez-Enríquez, R., Valadez, J., Max, A., Dumas, S., & Diaz, N. (2020). Parental distribution in a cultivated stock for spotted rose snapper *Lutjanus guttatus* (Steindacher, 1869) estimated by newly development microsatellite markers. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 48(2), 247–256. <https://doi.org/10.3856/vol48-issue2-fulltext-2424>
- Peña-Navarro, N., & Chacón-Guzmán, J. (2019). Acuicultura en Costa Rica. *World Aquaculture*, 23–28.
- Peakall, R., & Smouse, P. E. (2012). GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research - an update. *Bioinformatics*, 28(19), 2537–2539. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts460>
- Pritchard, J. K., Stephens, M., & Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155, 945–959.
- Povh, J. A., Lopera, N. M., Ribeiro, R., Lupchinski, E., Gomes, P., & Lopes, T. (2008). Monitoreo genético en programas de repoblamiento de peces mediante marcadores moleculares. *Ciencia e investigación agraria*, 35(1), 5–15. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-16202008000100001>
- Reguera-Rouzaud, N., Díaz-Viloria, N., Pérez-Enríquez, R., Espino-Barr, E., Rivera-Lucero, M. I., & Munguía-Vega, A. (2021). Drivers for genetic structure at different geographic scales for Pacific red snapper (*Lutjanus peru*) and yellow snapper (*Lutjanus argentiventris*) in the tropical eastern Pacific. *Journal of Fish Biology*, 98, 1267–1280. <https://doi.org/10.1111/jfb.14656>
- Rice, W. R. (1989). Analyzing tables of statistical tests. *Evolution*, 41, 223–235.
- Roderic, D. M. (1996). TreeView: An application to display phylogenetic trees on personal computers. *Oxford University Press*, 12, 57–358.
- Rojas, J. (1996). Fecundidad y épocas de reproducción del “pargo mancha” *Lutjanus guttatus* (Pisces: Lutjanidae) en el Golfo de Nicoya, Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, 44(3), 477–487.
- Rojas, J., Maravilla, E., & Chicas, F. (2004). Hábitos alimentarios del pargo mancha *Lutjanus guttatus* (Pisces: Lutjanidae) en Los Cóbanos y Puerto La Libertad, El Salvador. *Revista de Biología Tropical*, 52(1), 163–170.
- Schuelke, M. (2000). Un método económico para el marcado fluorescente de fragmentos de PCR. *Nature Biotechnology*, 18, 233–234. <https://doi.org/10.1038/72708>
- Soto-Rojas, R., Hernández-Noguera, L., & Vega-Alpizar, L. (2018). Parámetros poblacionales y hábitos alimenticios del pargo mancha (*Lutjanus guttatus*) en el Área Marina de Pesca Responsable Paquera-Tambor, golfo de Nicoya, Costa Rica. *Uniciencia*, 32, 86–110. <https://doi.org/10.15359/ru.32-2.7>
- Soto-Rojas, R., Mejía-Arana, F., Palacios, J. A., & Hiramatsu, K. (2009). Reproducción y crecimiento del pargo mancha *Lutjanus guttatus* (Pisces: Lutjanidae) en el Golfo de Nicoya, Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, 57(1–2), 125–131.
- Taboun, Z. S., Walter, R. P., Ovenden, J. R., & Heath, D. D. (2021). Spatial and temporal genetic variation in an exploited reef fish: The effects of exploitation on cohort genetic structure. *Evolution Applied*, 14(5), 1286–1300. <https://doi.org/10.1111/eva.13198>
- Wangelin, M., & Wolff, M. (1996). Comparative biomass spectra of the zooplankton communities in Golfo Dulce and Golfo de Nicoya, pacific coast of Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, 44, 131–155.